

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE ^{N°} 729

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention Médecine)

PAR

MEJER BURSZTEJN

Né le 17 septembre 1908, à PINSK (Pologne)

Action du Poumon
sur les
polypeptides

Président : M. Léon BINET, Professeur.

Librairie L. RODSTEIN
17, Rue Cujas, PARIS (V^e)

—
1935

127

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention Médecine)

PAR

MEJER BURSZTEJN

Né le 17 septembre 1908, à PINSK (Pologne)

Action du Poumon sur les polypeptides

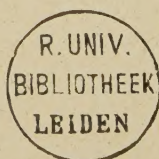
Président : M. Léon BINET, Professeur.

Librairie L. RODSTEIN
17, Rue Cujas, PARIS (V°)

1935

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie.	ROUVIÈRE.
Physiologie.	Léon BINET.
Physique médicale.	STROHL.
Chimie médicale.	DESGREZ.
Bactériologie.	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale.	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale.	CHEVASSU.
Anatomie pathologique.	ROUSSY.
Histologie.	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.	TIFFENEAU.
Thérapeutique.	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive.	TANON.
Médecine légale.	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	LAIGNEL-LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée.	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.	Maurice VILLARET.
Clinique médicale.	{ LOEPER.
	{ CARNOT.
	{ CLERC.
Hygiène et clinique de la première enfance.	{ Marcel LABBÉ.
Clinique des maladies des enfants.	{ LEREBoullet.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	{ NOBÉCOURT.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	{ H. CLAUDE.
Clinique des maladies du système nerveux.	{ GOUGEROT.
Clinique des maladies infectieuses.	{ GULLAIN.
	{ LEMIERRE.
Clinique chirurgicale.	{ CUNÉO.
	{ GOSSET.
	{ GRÉGOIRE.
Clinique ophtalmologique.	{ LENORMANT.
Clinique urologique.	{ TERRIEN.
	{ MARION.
Clinique d'accouchements.	{ BRINDEAU.
	{ COUVELAIRE.
Clinique gynécologique.	{ JEANNIN.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.	{ PROUST.
Clinique thérapeutique médicale.	{ OMBRÉDANNE.
Clinique oto-rhino-laryngologique.	{ RATHERY.
Clinique thérapeutique chirurgicale.	{ LEMAITRE.
Clinique propédeutique.	{ Pierre DUVAL.
Clinique de la Tuberculose.	{ SERGENT.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte.	{ BEZANÇON.
	{ MATHIEU.
	{ HOVELACQUE.
Professeurs sans chaire.	{ MULON.
	{ OLIVIER.
	{ VERNE.
	{ MOCQUOT.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
BÉNARD Henri. . .	Pathologie médicale.
BERNARD Étienne. .	Pathologie médicale.
BESANÇON Justin. .	Hydrologie.
BOULIN.	Pathologie médicale.
BULLIARD.	Histologie.
CATHALA.	Pathologie médicale.
CHEVALLIER. . . .	Pathologie médicale.
DOGNON.	Physique.
FEY.	Urologie.
GALLIARD.	Parasitologie.
GASTINEL.	Bactériologie.
DE GAUDART	
D'ALLAINES. . . .	Pathologie chirurgi- cale.
GAYET.	Physiologie.
GIROUD.	Histologie.
HAGUENAU.	Pathologie médicale.
HALPHEN.	Oto-rhino-laryngolo- gie.
HAZARD.	Pharmacologie.
HUGUENIN.	Anatomie patholo- gique.
JOANNON.	Hygiène.
LABBÉ Henri. . . .	Chimie biologique.
LACOMME.	Obstétrique.
LANTUÉJOUL. . . .	Obstétrique.
LAROCHE Guy. . . .	Pathologie médicale.

MM.	
LEMAIRE.	Pathologie expéri- mentale.
LEVEUF.	Pathologie chirurgi- cale.
M ^{lle} J. LÉVY.	Pharmacologie.
LÉVY-VALENSI. . . .	Neurologie et Psy- chiatrie.
MOREAU.	Pathologie médicale.
MOULONGUET. . . .	Pathologie chirurgi- cale.
MOUQUIN.	Pathologie médicale.
OBERLING.	Anatomie patholo- gique.
PETIT-DUTAILLIS. . .	Pathologie chirurgi- cale.
PIÉDELIÈVRE. . . .	Médecine légale.
PORTES.	Obstétrique.
RICHET.	Physiologie.
SANNIÉ.	Chimie biologique.
SÈNÈQUE.	Pathologie chirurgi- cale.
TROISIER.	Pathologie expéri- mentale.
TURPIN.	Pathologie médicale.
VIGNES.	Obstétrique.
WILMOTH.	Pathologie chirurgi- cale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE pour le service des examens.

MM.	
ALGLAVE.	Pathologie chirurgi- cale.
BUSQUET.	Pharmacologie.
CHAILLEY-BERT. . .	Physiologie.

MM.	
LEROUX.	Anatomie patholo- gique.
NEVEU-LEMAIRE. . .	Parasitologie.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
à titre permanent.

MM.		MM.	
ABRAMI.	} Clinique médicale.	BASSET.	} Clinique chirurgicale.
ALAJOUANINE.		BROCQ.	
AUBERTIN.		CADENAT.	
BRULÉ.		GATELLIER.	
CHABROL.		HEITZ-BOYER.	
CHIRAY.		MOURE.	
DONZELOT.		QUENU.	
DUVOIR.		SCHWARTZ.	
LIAN.		VELTER.	
PASTEUR- VALLERY-RADOT.			
SÉZARY.			

MM.	
ÉCALLE.	} Clinique obstétricale.
GUÉNIOT.	
LE LORIER.	
LÉVY-SOLAL.	
METZGER.	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé.	Éducation physique.
LEDOUX-LEBARD.	Radiologie clinique
WEIL-HALLÉ.	Puériculture.
FREY.	Stomatologie.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE.

A MA MÈRE.

A MON FRÈRE.

A TOUS MES PARENTS.

A TOUS MES AMIS.

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur LÉON BINET,

*Professeur de Physiologie
à la Faculté de Médecine de Paris.*

Qui a bien voulu nous associer à ses
travaux et nous guider de ses conseils.
Avec notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR E. AUBEL,

*Maître des Conférences à la Faculté des Sciences
de Paris,*

Chef de Service à l'Institut de Biologie-physico-chimique.

Avec l'expression de nos très sincères
remerciements.

A TOUS MES CAMARADES
DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FRED VLÈS,

*Professeur de Physique Biologique à la Faculté
de Médecine de Strasbourg.*

Qui a été pour nous un Maître bienveillant
et éminent et dont nous gardons un très
reconnaissant souvenir.

A NOS MAÎTRES DE LA FACULTE
ET DES HÔPITAUX DE STRASBOURG.

A NOS MAÎTRES DE LA FACULTÉ
ET DES HÔPITAUX DE PARIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

Le problème des « fonctions internes » du poumon est à l'ordre du jour. On sait que, en dehors des échanges gazeux qui s'effectuent au niveau de cet organe, se produisent dans les poumons des modifications des graisses du sang ; la question de la lipopexie et de la lipodiérèse pulmonaires, posée et étudiée par H. Roger et Léon Binet, semble bien résolue.

Mais le poumon agit-il seulement sur les graisses du sang ? Ne doit-on pas penser à une intervention de cet organe dans le métabolisme des matières azotées ? C'est cette idée qui nous a conduit à étudier l'action du poumon sur les polypeptides.

Le travail que nous présentons comporte 3 chapitres :

I. Dans le premier, nous résumons les recherches qui mettent en évidence l'existence des ferments protéolytiques au niveau des tissus.

II. Dans le deuxième, nous étudions les caractères chimiques et le mode d'action de ces ferments.

III. Dans le troisième, nous exposons les résultats

que nous a donnés l'étude de l'action du poumon sur les polypeptides.

Notre travail a été inspiré et guidé par M. le Professeur Léon Binet, qui nous a ouvert les portes de son laboratoire, et par M. E. Aubel, qui nous a conseillé pour la partie chimique de notre travail. Nous leur exprimons notre très vive et sincère reconnaissance.

CHAPITRE I

MISE EN ÉVIDENCE DES FERMENTS PROTÉOLYTIQUES AU NIVEAU DES TISSUS

L'existence des ferments protéolytiques intra-cellulaires a été découverte pour la première fois par Sal-kowski, au cours de ses recherches sur l'autolyse.

Un fragment de foie, prélevé aseptiquement et gardé à l'abri de toute contamination, s'enrichit en azote non coagulable, c'est-à-dire que ses protéines subissent le même sort que la matière albuminoïde dans le tube digestif.

Le même fait fut observé avec d'autres tissus (Voir les travaux de A. Gautier sur les muscles).

Donc, après la mort, on peut constater l'apparition de ferments protéolytiques.

Evidemment les phénomènes autolytiques ne reflètent pas d'une manière fidèle les processus chimiques qui se produisent pendant la vie. Au cours de l'autolyse, les produits de décomposition ne sont pas éliminés ; des

éléments nouveaux, ainsi que de l'oxygène ne sont pas apportés du dehors. En un mot, il existe un ensemble de conditions anormales qui peut influencer l'intensité et les caractères des réactions diastasiques.

Y a-t-il identité entre les ferments extraits après la mort et les facteurs qui règlent le jeu complexe des réactions anaboliques et cataboliques au cours de la vie? On admet que toute diastase dont l'activité devient apparente après la destruction de la cellule a son importance fonctionnelle au cours de la vie.

Il existe plusieurs méthodes pour étudier *in vitro* les ferments intracellulaires.

1° On peut faire agir sur une substance donnée un tissu entier finement broyé.

2° On peut étudier l'extrait d'un organe dans l'eau, ou dans la glycérine (la glycérine arrête complètement les phénomènes autolytiques).

3° On peut préparer un jus en triturant le tissu avec du sable et en le soumettant ensuite à une pression de 500 atmosphères.

Par cette dernière méthode Hedin a pu démontrer, en dosant l'azote non coagulable, l'existence d'une protéinase au niveau de la rate, du foie, des reins et des muscles.

En 1904 Vernon a trouvé dans tous les tissus un ferment identique à l'érepsine intestinale. Il a comparé la richesse en érepsine des différents organes, en mesurant le temps nécessaire pour transformer une quantité donnée de peptone en produits abiurétiques. Voici quelques chiffres trouvés : muqueuse duodénale 27,7 ;

rein 14,3; rate 7,6; poumon 6,9; foie 5; muscle 0,8; sérum 0,1.

Cette teneur assez constante chez les individus normaux paraît subir des variations au cours des processus pathologiques.

Gonheim, en utilisant des tissus complètement débarrassés de sang, a obtenu des résultats analogues avec le rein, les poumons et les muscles.

En ce qui concerne le pouvoir protéolytique du sang, diverses recherches ont été faites.

Ainsi Delezenne, en 1903, a prouvé l'action protéolytique du sérum sur la gélatine et la caséine, en présence du chloroforme qui détruit l'antiferment normalement présent.

Achelme, en 1899, a démontré l'existence de ferments protéolytiques dans les leucocytes. La question des protéases leucocytaires fut ensuite reprise par N. Fiessinger (Voir N. Fiessinger : « Les ferments des leucocytes »).

La découverte des polypeptides de synthèse a permis à Abderhalden et à ses collaborateurs d'étudier d'une autre manière le pouvoir érepsique d'un tissu.

En faisant agir un jus préparé avec le rein, le foie, le cerveau, les muscles, il a pu hydrolyser la glycyl-glycine, la glycyl-alanine, et la leucyl-leucine. Ces dipeptides résistent à l'action de la trypsine. Abderhalden suit le degré d'hydrolyse soit en mettant en évidence les acides aminés libres, soit en comparant au polarimètre l'action de la solution sur la lumière polarisée (presque tous les acides aminés sont optiquement actifs, ayant dans leur molécule un atome de C asymétrique).

Parmi les publications plus récentes, signalons : le travail de Nye sur l'existence d'une protéinase au niveau du poumon, protéinase qu'attaque la fibrine à pH 4 ; les recherches de H. Délaunay sur le coefficient d'auto-protéolyse, qui augmente à jeun au niveau du foie ; les études d'Hedin sur les protéases de la rate (α -protéase qui agit en milieu alcalin et β -protéase qui agit en milieu acide) ; les travaux de N. Fiessinger et ses collaborateurs sur l'action protéolytique du foie et de la rate ; les recherches de Martens sur le foie ; les études de M. Loeper sur les ferments protéolytiques du sang ; le travail de Grassmann et Weyde sur l'hydrolyse des polypeptides synthétiques par le sérum normal et pathologique.

Nous avons voulu ajouter quelques notions à la connaissance de la spécificité des diastases cellulaires.

Dans le deuxième chapitre, nous abordons la question du point de vue chimique ; ici nous allons l'étudier à un autre point de vue. On sait qu'il existe une spécificité tissulaire avec des éléments dépouillés, dans le tube digestif, de toute marque d'origine, chaque organe reconstitue la matière vivante à sa propre image.

Existe-t-il aussi des enzymes spécifiques ? Autrement dit, les ferments s'attaqueront-ils à n'importe quelle albumine, à n'importe quelle peptone ou seulement aux albumines et peptones de leurs propres tissus ? D'après Abderhalden, ainsi que d'après Tscherikowski, le foie, le cerveau, le corps thyroïde, les muscles contiennent des protéases spécifiques. L'extrait d'un tissu n'agit que sur la peptone préparée avec le même organe. Le rein

seul constitue une exception : il a un pouvoir peptolytique non spécifique.

Cette étude de la spécificité biologique des diastases, et surtout des albumines dégradées à l'état de peptones, a été reprise et complétée ces dernières années par l'école italienne de Sivori, Rebaudi et Menniti.

Quel est le rôle des ferments protéolytiques intracellulaires ? Chez les êtres monocellulaires, ils interviennent dans les phénomènes de digestion. Chez les êtres supérieurs ils sont les agents de destruction et peut-être aussi de synthèse de la matière protéique au niveau des tissus. Par l'intermédiaire des diastases la cellule peut régler à chaque instant l'intensité de son métabolisme.

Pour Mitchel le métabolisme azoté endogène est excessivement faible, si la ration alimentaire couvre suffisamment le besoin azoté. Par contre il augmente au cours du jeûne et, dans ce cas, il faut supposer que l'activité des ferments protéolytiques s'accroît également. Cette augmentation ne porte pas sur tous les tissus ; l'état du besoin de l'organisme a une répercussion élective sur les différents organes ; ainsi le foie et le myocarde ne sont pas touchés au cours du jeûne.

L'activité des enzymes cellulaires dépend à chaque instant des conditions locales (Voir plus bas les modifications pathologiques) et de l'état général, du degré de besoin de tout l'organisme.

Rôle des diastases protéolytiques dans les phénomènes pathologiques. — Les ferments protéolytiques interviennent dans différents processus pathologiques, où leur action complète souvent celle des ferments leuco-

cytaires. Dans un tissu lésé, ou mal irrigué, il y a exaltation du pouvoir destructeur des enzymes normalement freinées. Cette exagération du pouvoir protéolytique se traduit par une destruction du tissu malade (Voir les travaux de P. Duval sur l'hyperpolypeptidémie post-opératoire). Dans d'autres processus pathologiques : atrophie musculaire, ramollissement des noyaux cancéreux, cachexie, résorption de l'exsudat fibrineux au cours de la pneumonie, retour de l'utérus gravide à son volume normal après l'accouchement, les diastases protéolytiques jouent également un rôle important.

CHAPITRE II

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET MODE D'ACTION DES FERMENTS PROTÉOLYTIQUES

Dans ce chapitre nous allons étudier les ferments protéolytiques intra- et extra-cellulaires au point de vue chimique.

Le rapprochement de ces deux catégories de ferments nous paraît légitime, étant donné que la « digestion » des protéines et leur dégradation au niveau des tissus sont des phénomènes chimiquement identiques.

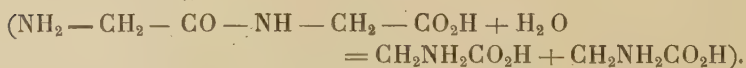
Nos connaissances ont beaucoup évolué au cours de ces dernières années, surtout grâce aux travaux de Willstaetter, Waldschmidt-Leitz et Grassmann. Autrefois on n'admettait que l'existence de deux groupes de diastases, la pepsine qui agit en milieu acide et la trypsine qui agit en milieu neutre. Les différentes enzymes protéolytiques, mises en évidence soit dans la levure, soit au cours de l'autolyse, soit dans les leucocytes, entraient dans ce schéma.

Au début du siècle, Gonheim a trouvé l'érepsine, diastase qui n'attaque que les protéines dégradées et qui fait partie de tous les tissus.

La découverte des polypeptides synthétiques par Fischer a permis une étude plus approfondie de la question. Un polypeptide, par exemple la glycyl-glycine $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ a 3 groupements caractéristiques :

1° Un groupement acide $-\text{CO}_2\text{H}$; 2° un groupement amide $-\text{CO} - \text{NH}$; 3° un groupement aminé $-\text{NH}_2$.

Au cours de l'hydrolyse il y a dislocation du groupement amidé avec régénération de la fonction acide et amine



Plusieurs faits caractéristiques ont été observés avec les polypeptides.

1° La pepsine n'a aucune action sur les polypeptides, la trypsine s'attaque à un grand nombre d'entre eux.

2° L'érepsine et les extraits tissulaires agissent sur des polypeptides qui sont résistants à l'action de la trypsine.

3° L'hydrolyse des polypeptides par les diastases est asymétrique. La *d*-alanyl-*d*-alanine est scindée, par contre la *d*-alanyl-*l*-alanine n'est pas transformée.

4° Certains polypeptides sont plus résistants que les autres :

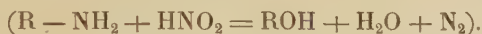
Ainsi l'alanyl-glycine est hydrolysée par la trypsine, par contre la glycyl-alanine résiste à l'action du suc pancréatique.

Un progrès important a été réalisé dernièrement :

A) *En ce qui concerne les méthodes de dosage* : l'action protéolytique, comme nous venons de le dire, consiste dans la dislocation du groupement —CO—NH— . 4 méthodes permettent de suivre l'enrichissement d'une solution en groupements CO_2H ou NH_2 .

1° La formol-titration de Sørensen : après avoir bloqué par le formol le groupement $\text{NH}_2 (\text{CO}_2\text{H—CH—N=CH}_2)$, on dose par titration le groupement carboxylé.

2° La méthode gazométrique de Van Slyke, qui permet de doser l'azote aminé



3° La méthode de Willstaetter et Waldschmidt-Leitz : on dose le groupement CO_2H par titrimétrie dans un milieu fortement alcoolique ; suivant la teneur en alcool, on dose soit tous les radicaux acides, soit seulement le CO_2H des polypeptides, à l'exception des acides aminés libres (ceci grâce à une différence des constantes de dissociation des acides aminés et des polypeptides).

4° La méthode de Walstrom-Lang : on dose par alcalimétrie le groupement NH_2 dans un milieu acétonique.

B) *En ce qui concerne la préparation des diastases* : on a essayé de les isoler à l'état pur. 2 tentatives ont été faites, l'une par Willstaetter, l'autre par Northrop.

1° Willstaetter a utilisé dans ce but les propriétés acides et basiques des ferments. Une substance basique insoluble fixe, en milieu alcalin, les ferments acides ; ce

complexe d'adsorption est décomposé en milieu acide (élution). Par contre, un composé acide fixera les diastases alcalines. Comme fixateur basique, Willstaetter emploie l'alumine hydratée comme substance acide, le kaolin.

Pour séparer par exemple les différentes protéases qu'on trouve dans le pancréas, Willstaetter procède de la façon suivante. A la solution qui contient la protéinase, la carboxypolypeptidase, l'aminopolypeptidase et la dipeptidase, il ajoute l'alumine à pH 4. Le précipité étant séparé, la solution contient une protéinase et une carboxypolypeptidase. L'amino- et la dipeptidase ont été adsorbées. Il ajoute à la solution l'alumine à pH 7 : la carboxypolypeptidase est adsorbée, la protéinase seule reste en solution. Pour libérer l'amino- et la dipeptidase on décompose le complexe d'adsorption par un alcali. Enfin pour séparer l'amino- et la dipeptidase on adsorbe la dernière par $Fe(OH)_3$ à pH 4.

2° Northrop a préparé les ferments à l'état cristallisé. En partant de la pepsine commerciale, il a préparé en 1929 une albumine cristallisée qui a les caractères suivants : son poids moléculaire est compris entre 33000 et 38000 ; sa composition chimique est : $C = 52,3$, $H = 6,68$, $N = 15,3$, $S = 0,88$, $P = 0,078$, $Cl = 0,22$ pour 100 ; son point isoélectrique est à 2,75. Pour Northrop, c'est la molécule protéique qui est la partie active du ferment. Cette pepsine cristallisée est inactivée par la chaleur, par les alcalis, par les rayons ultra-violets et par les radiations β et γ du radium. Elle est adsorbée par les protéines cristallisées. Une molécule de cette pepsine

décompose en 1 minute 1000 chaînons —CO—NH— dans le cas où le ferment agit sur l'édestine. Injectée par voie intrapéritonéale à un lapin, elle provoque l'apparition d'un antisérum.

En 1931 Northrop et Kunitz ont préparé la trypsine cristallisée. Pour cela ils ont fait des précipitations fractionnées par $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dans un extrait de pancréas.

Il s'agit aussi d'une protéine qui a les caractères suivants : sa composition élémentaire est $\text{C} = 50$, $\text{H} = 7,2$, $\text{N} = 14,8$, $\text{Cl} = 2,86$, $\text{S} = 1,1$ pour 100 ; son point isoélectrique est à $\text{pH } 7$. Elle n'a aucune action sur les dipeptides. Cette trypsine est thermostable. On a pu soumettre à l'ébullition durant plusieurs minutes la solution de trypsine sans diminuer son activité.

La molécule albuminoïde est-elle vraiment l'élément actif du ferment ?

Pour beaucoup de chercheurs, en particulier pour Willstaetter (Voir plus loin), la protéine n'agirait que comme un support colloïdal.

Nous allons résumer l'état actuel de la question des ferments protéolytiques, d'après les travaux de Willstaetter et de son école. Toutes les protéases (sous ce nom on réunit les ferments qui s'attaquent soit aux albumines, soit à leurs produits d'hydrolyse) sont divisées en protéinases et éreptases. Les protéinases exercent leur action sur la molécule intacte, les éreptases sur les molécules qui ont subi une transformation partielle.

A. — LES PROTÉINASES. — Il en existe trois groupes :

I. *Pepsinases*. — On trouve la pepsine dans la sécré-

tion gastrique, elle donne des produits d'hydrolyse à nombre de molécules élevé. Son pH optimum est à 2, puisqu'elle agit sur les protéines chargées positivement. D'après Hugounenq et Loiseleur, elle agit sur le groupement NH_2 de la liaison amidée.

H. *Tryptases*. — Les diastases de ce groupe se trouvent dans la sécrétion pancréatique, dans la rate (α -liéno-protéase), dans les leucocytes. Tous ces ferments ont les caractères communs suivants : *a*) ils sont activés par l'entérokinase ; *b*) leur pH optimum est à 8 ; ils ne transforment que les protéines chargées négativement. D'après Hugounenq et Loiseleur, la trypsine exerce son action sur le groupement CO_2H de la liaison amidée.

III. *Papaïnases*. — A ce groupe appartient un grand nombre de protéases, qu'on trouve chez les végétaux, dans les leucocytes, dans la levure, et enfin dans les cellules animales où elles portent le nom de cathepsine.

Les enzymes de ce groupe ont deux caractères distinctifs :

a) elles n'hydrolysent que les albumines électriquement neutres, c'est-à-dire que leur pH optimum varie avec le point isoélectrique (pHi) de la protéine (rappelons qu'une albumine est électriquement neutre à son point isoélectrique, qu'elle est chargée positivement au-dessous du pHi et qu'elle est chargée négativement au-dessus du pHi) ;

b) elles sont activées par H_2S , par HCN et surtout par le glutathion réduit (glutaminyl-cystinyl-glycine) qui est l'« activateur » naturel des ferments protéolytiques des cellules, aussi bien animales que végétales. Étant donné

que le glutathion oxydé est inactif, il y a lieu de croire que le rH intracellulaire (potentiel d'oxydo-réduction) intervient dans les phénomènes d'activation des diastases.

En résumé, il existe trois groupes de protéinases qui s'opposent : α) par des activateurs différents, β) par les caractères des albumines sur lesquelles elles ont une action (protéines chargées positivement, négativement, ou électriquement neutres). Il s'agit donc de ferments spécifiques.

B. — LES ÉREPTASES. — Elles n'ont aucune action sur la molécule protéique intacte. Elles transforment les polypeptides en s'attaquant à un chaînon terminal.

D'après leur mode d'action, on les divise en : protaminases, carboxypolypeptidases, aminopolypeptidases, dipeptidases et prolinases.

1° La protaminase hydrolyse les protamines (corps relativement simples à caractère basique prononcé).

2° La dipeptidase s'attaque spécifiquement aux dipeptides, qui ne sont jamais hydrolysés par l'aminopolypeptidase, rarement par la carboxypolypeptidase (glutaminyl-tyrosine, phénylalaninyl-arginine).

3° L'aminopolypeptidase transforme les peptides ayant au moins 3 chaînons ; c'est une condition nécessaire, mais non suffisante : ainsi la leucyl-diglycyl-tyrosine est hydrolysée par l'aminopolypeptidase, par contre la leucyl-triglycyl-tyrosine ne l'est pas.

L'aminopeptidase ainsi que la dipeptidase s'attaquent au chaînon terminal qui porte le groupement NH_2 libre. Si on bloque le groupement NH_2 , l'action diastasique

s'arrête. Par contre on peut bloquer le groupement carboxylé.

4° La carboxypolypeptidase se combine au chaînon terminal, qui porte le radical CO_2H . La présence de certains acides aminés (arginine, tyrosine, cystine, tryptophane) paraît indispensable. On peut préparer avec le glycocolle et l'alanine des polypeptides à nombre de molécules élevé, et qui ne sont pas transformés par la carboxypolypeptidase. Ceci est dû au fait que le carboxypolypeptidase n'agit que sur un groupement CO_2H suffisamment ionisé. En effet n'importe quel peptide devient attaquant par la carboxypolypeptidase, si un radical acide est combiné à son groupement NH_2 libre. Ainsi la diglycine n'est pas transformée, par contre la benzoyl-diglycine est hydrolysée.

5° La prolinase se combine à la proline.

Pour illustrer l'action de ces différentes enzymes, nous empruntons à Schaeffner un exemple où 4 éreptases interviennent dans la scission en acides aminés d'un peptide synthétique.

Le pentapeptide prolyl-leucyl-glycyl-glycyl-tyrosine est transformé par la prolinase en proline et en un tétrapeptide leucyl-diglycyl-tyrosine; ce dernier est hydrolysé par la carboxypolypeptidase en tyrosine et leucyl-diglycine; l'amino-polypeptidase donne la leucine et la glycyl-glycine, qui est scindée par la dipeptidase en 2 molécules de glycocolle. Chacune des 4 enzymes a détaché un seul acide aminé.

Les activateurs. — Parmi les éreptases, seule la carboxypolypeptidase a besoin d'être activée.

Il y a, pour les ferments protéolytiques, 2 modes d'activation : α) activation par l'entérokinase, qui agit sur la trypsine et la carboxypolypeptidase du pancréas ; β) l'activation par le glutathion (ainsi que par H_2S et HCN), qui active la cathepsine (protéinase tissulaire) et la carboxypolypeptidase tissulaire. Il y a opposition nette entre ces deux modes d'activation, étant donné que les activateurs ne sont pas interchangeables.

CLASSIFICATION DES DIASTASES PROTÉOLYTIQUES
AU NIVEAU DES TISSUS.

De ce que nous venons de dire, il résulte qu'un tissu contient plusieurs diastases protéolytiques qui lui permettent de transformer la molécule protéique en acides aminés, en passant par le stade des polypeptides.

I. Une protéinase type papaïne, la cathepsine, qui transforme les protéines électriquement neutres, et qui est activée par le glutathion réduit.

II. Une carboxypolypeptidase type cathepsine, qui s'attaque au groupement CO_2H libre des polypeptides, et qui est activée par le glutathion réduit.

III. Une amino-polypeptidase.

IV. Une dipeptidase. Ces deux dernières se combinent au groupement NH_2 libre des polypeptides.

Donc 4 ferments, dont 2 sont activés par le glutathion (ainsi que par H_2S et HCN) et 2 ne le sont pas.

Ajoutons encore que HCN inhibe complètement l'action de l'amino- et de la dipeptidase.

La teneur en amino- et dipeptidase est beaucoup plus élevée que la teneur en cathepsine et en carboxypolypeptidase.

Si l'on compare le système protéolytique au niveau des tissus avec le mélange des diastases digestives dans l'intestin (suc pancréatique + suc intestinal), on trouve une différence essentielle : dans un cas, l'activateur est le glutathion ; dans l'autre c'est l'entérokinase.

Par contre les leucocytes contiennent les 2 catégories de ferments :

1° une protéinase type trypsine (entérokinase) ; 2° une protéinase type cathepsine (glutathion).

Dernièrement Willstaetter a proposé de distinguer, parmi les diastases intracellulaires, 2 catégories :

1° Les *lyoenzymes*, ferments solubles, qui peuvent être extraits facilement par l'eau et par la glycérine.

2° Les *desmoenzymes*, qui sont chimiquement combinées au protoplasme et qui sont partiellement libérées au cours de l'autolyse ; pour les extraire il faut attaquer (par la papaine par exemple) une partie de leur support colloïdal.

D'après Willstaetter, ces enzymes n'ont pas besoin d'être activées.

MODE D'ACTION DES DIASTASES PROTÉOLYTIQUES.

E. Fischer admettait la possibilité d'une combinaison chimique entre le ferment et le substrat, combinaison

basée sur les propriétés chimiques et stéréochimiques de ce dernier.

Plus tard, on a essayé d'expliquer les processus diastatiques par l'état colloïdal du protoplasme.

Bayliss voit dans les phénomènes enzymatiques l'intervention de forces non spécifiques. Le substrat est activé par adsorption sur la surface du ferment.

D'autres chercheurs ont soutenu que l'action des diastases est due à une structure colloïdale particulière. Ils nient l'intervention, dans les phénomènes enzymatiques, d'une fonction chimique définie.

Les travaux modernes marquent un retour aux idées de Fischer.

On admet qu'il existe une affinité chimique entre l'enzyme et une fonction déterminée du substrat.

Deux diastases différentes, donc spécifiques, peuvent attaquer la même substance, mais en différents endroits. Ainsi la leucyl-glycyl-tyrosine peut être hydrolysée par une carboxypolypeptidase qui se fixe sur la tyrosine, ou par une amino-polypeptidase qui s'attache au groupement NH_2 libre de la leucine.

La spécificité d'une diastase se caractérise, soit par la substance à laquelle elle s'attaque, soit par son mode de combinaison avec elle.

L'enzyme serait composée d'un support colloïdal (Willstaetter), non spécifique, et d'un composé chimique bien défini, qui est la partie active du ferment. Cette partie active se combine chimiquement à une fonction déterminée de la substance à transformer.

L'idée de distinguer, dans une diastase, une partie

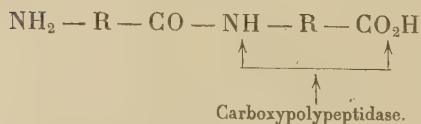
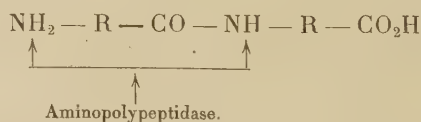
colloïdale et une autre chimiquement active fut proposée pour la première fois par G. Bertrand dans le cas de la laccase.

Dans l'action diastatique, il y a deux stades : dans le premier il se forme une combinaison chimique entre la partie active du ferment et le substrat ; dans le deuxième il y a décomposition du complexe enzyme-substrat, avec mise en liberté du ferment et des produits d'hydrolyse.

D'après la théorie de la double affinité d'Euler et Josephson, ces deux stades exigent deux groupements différents, chimiquement bien définis, dans la molécule de l'enzyme et dans la molécule du substrat.

Cette théorie a été particulièrement étudiée dans le cas de l'hydrolyse du saccharose par l'invertine.

Dans le cas des éreptases, on admet, comme nous l'avons dit, que la carboxypolypeptidase se fixe sur le groupement carboxylé, l'amino- et la dipeptidase sur le groupement NH_2 . Le 2^e point d'attache sera, pour toutes les éreptases, le groupement NH (Balls et Kohler). Ainsi on peut schématiser l'action de l'aminopeptidase et de la carboxypolypeptidase de la manière suivante :



En ce qui concerne les groupements actifs de l'enzyme on suppose que, dans le cas de la carboxypolypeptidase, la partie chimiquement combinée est une base ; dans le cas de l'amino et de la dipeptidase, il s'agirait d'une aldéhyde. En effet, la courbe d'hydrolyse des dipeptides par la dipeptidase en fonction du pH est la même que celle de la réaction des dipeptides avec le glucose. Dans les 2 réactions : dipeptide-enzyme et dipeptide-glucose interviendront les mêmes fonctions chimiques.

Une autre théorie, pour expliquer le mode d'action des ferments protéolytiques, en particulier de la trypsine et de la pepsine, a été proposée par Hugounenq et Loiseleur.

Pour ces auteurs, la pepsine et la trypsine sont des substances protéiques spéciales. La pepsine aurait une forte diminution de NH_2 par rapport au CO_2H , la trypsine au contraire aurait une diminution de CO_2H par rapport à NH_2 .

Schématiquement on peut présenter les choses ainsi :

Matière protéique ordinaire : $NH_2 - M - CO_2H$.

Pepsine $P - CO_2H$. Trypsine $T - NH_2$.

La pepsine ionisée (H^+ et $P - COO^-$) adsorbe les ions Na^+ , les ions Cl^- qui restent en excès exerceront l'action protéolytique.

Pour la trypsine, il y aura adsorption de CO_3^- . La solution contiendra un excès d'ions Na^+ qui auront un pouvoir diastasique.

L'action d'une diastase, d'après ces conceptions, consiste dans l'adsorption élective d'un ion, qui permet à l'ion restant de devenir actif.

La question des ferments protéolytiques, en particulier des protéases tissulaires, présente encore beaucoup de points obscurs. Il nous a semblé pourtant utile de résumer la question telle qu'elle se présente d'après les recherches modernes.

CHAPITRE III

ACTION DU POU MON SUR LES POLYPEPTIDES

Les recherches que nous avons exposées dans les chapitres précédents ont été exécutées sur des tissus profondément modifiés.

Il nous a semblé intéressant de reprendre certains points de la question, en nous mettant dans des conditions plus physiologiques.

Pour prouver l'action d'un organe *in vivo* sur une substance donnée, il existe deux méthodes.

La première repose sur l'étude comparative des sangs artériel et veineux, c'est-à-dire du sang prélevé à l'entrée et à la sortie de l'organe.

Par cette méthode, Cl. Bernard a démontré le rôle glycogénique du foie ; plus récemment H. Roger et Léon Binet ont mis en évidence le rôle des poumons dans le métabolisme des graisses. Une variante de cette méthode consiste à injecter la substance à étudier dans le vaisseau afférent et à la rechercher dans le vaisseau efférent.

La deuxième méthode consiste à perfuser l'organe, en se mettant dans des conditions aussi physiologiques que possible.

Nous croyons que la première méthode est surtout utile dans les cas où l'organe a une action bien nette et surtout une action spécifique.

Dans le cas des diastases protéolytiques, il ne s'agit pas d'une propriété spécifiquement liée à un seul organe. Nous nous trouvons en présence d'une propriété protoplasmique, qu'on peut déceler dans toutes les cellules.

Pour démontrer l'action biochimique d'un organe, deux conditions sont nécessaires : 1° mettre l'organe en présence d'une quantité importante de la substance qu'on veut étudier ; 2° laisser agir l'organe un temps suffisamment long. En effet, le résultat d'un seul passage n'est souvent pas assez net pour pouvoir être mis en évidence. Ces deux conditions sont réalisées au cours de la perfusion.

Nous avons étudié l'action des poumons sur les polypeptides par la méthode de perfusion. Nous n'avons pas trouvé une différence nette dans la teneur en polypeptides entre le sang artériel (artère fémorale) et le sang veineux mêlé (cœur droit).

Nous avons étudié, au cours de la perfusion, l'action du poumon sur le sang seul et sur le sang auquel nous avons ajouté des polypeptides.

Nous avons comparé l'action du poumon au cours de la perfusion avec son action *in vitro*.

Nous exposerons successivement :

A) La technique de la perfusion pulmonaire ;

- B) La technique de préparation des polypeptides ;
- C) La méthode de dosage des polypeptides.

A

Technique de la perfusion pulmonaire.

Pour étudier le poumon seul, nous avons suivi la technique de perfusion de Léon Binet et Ch. Mayer.

Dans cette préparation, les poumons sont perfusés à l'aide d'un appareil qui est une seringue de Louis-Jubé modifiée en ce qu'un mouvement de rotation d'une fréquence réglable remplace le mouvement de va-et-vient. Le mouvement de la seringue est commandé par un moteur électrique.

Le chien endormi au chloralose est saigné à blanc. Le sang est recueilli sur du citrate de sodium.

Après avoir enlevé le sternum et libéré la trachée, on établit la respiration artificielle.

On introduit dans l'artère pulmonaire une canule de verre par laquelle le sang pénètre dans le système vasculaire du poumon.

Ce sang s'écoule ensuite par une canule obturant l'orifice auriculo-ventriculaire gauche.

Le sang est aspiré et rejeté continuellement par les 2 canules. Il est maintenu au bain-marie à 39° ; pour éviter l'évaporation de l'eau, on le recouvre d'une couche d'huile de vaseline.

Enfin le thorax du chien est recouvert d'une serviette humide, chauffée par un radiateur.

Cette préparation permet de s'approcher autant que possible des conditions physiologiques.

Pour étudier l'action du poumon sur les polypeptides ajoutés, voici comment nous avons procédé. A une quantité mesurée du sang (600 centimètres cubes), nous ajoutons un poids connu de polypeptides. Le tout est bien mélangé. Une partie (100 centimètres cubes) sert pour le dosage ; 350-400 centimètres cubes sont perfusés et le reste est laissé à l'étuve à 39° sous huile de vaseline. Ce témoin laissé à l'étuve permet d'étudier l'action du sang seul sur les polypeptides.

B

Méthode de préparation des polypeptides.

On sait que l'acide trichloracétique à 20 pour 100 précipite seulement une partie de la peptone de Witte, tandis que l'acide phospho-tungstique en précipite presque la totalité.

L'acide phospho-tungstique ajouté au filtrat trichloracétique donne un précipité abondant. On observe la même chose avec le filtrat de tungstate de soude.

Voici quelques chiffres.

Soit une solution de peptone qui contient 4^{mg},60 N par centimètre cube.

Le filtrat trichloracétique à 20 pour 100 contient 3^{mg},70 N par centimètre cube.

Le filtrat tungstique à 2 pour 100 contient 1^{mg},73 N par centimètre cube.

Le filtrat phospho-tungstique à 2 pour 100 contient $0^{\text{mg}},50$ N par centimètre cube.

Donc la précipitation est la plus complète avec l'acide phospho-tungstique.

On prépare au bain-marie une solution de peptone à 10 pour 100. A la solution refroidie et filtrée, on* ajoute un volume égal d'acide trichloracétique à 20 pour 100, on agite bien et on filtre au bout de 30 minutes. Au filtrat parfaitement limpide, on ajoute une solution d'acide phospho-tungstique jusqu'à ce qu'on ait une concentration finale de 2 pour 100. On laisse déposer et on filtre. On s'assure que le filtrat ne précipite plus avec l'acide phospho-tungstique.

Pour récupérer les polypeptides, on dissout le précipité dans l'acétone et on décompose la combinaison acide phospho-tungstique-peptone par la baryte à chaud. Au bout d'une heure, la solution est filtrée ; le précipité de phospho-tungstate de baryum est soigneusement lavé à l'eau chaude.

L'excès de baryum est précipité par H_2SO_4 ; on élimine après filtration le léger excès de H_2SO_4 par le carbonate de baryum.

La solution neutre au tournesol est évaporée au bain-marie. On obtient une poudre jaune qui ne donne pas de trouble avec l'acide trichloracétique, et qui est complètement précipitée par l'acide phospho-tungstique.

Cette poudre est composée d'un mélange de peptones et de polypeptides.

Dans notre exposé ultérieur, nous la désignerons sous

le nom de polypeptides ; ce mot n'a pas, dans ce cas, une signification chimique très précise. Nous l'appelons polypeptides par analogie avec les polypeptides du sang, qui sont aussi probablement un mélange de corps azotés différents.

Les polypeptides du sang et nos polypeptides ont un caractère commun : ils ne sont pas précipitables par l'acide trichloracétique, et ils sont éliminés par l'acide phospho-tungstique.

En ce qui concerne leur composition chimique, ces polypeptides contiennent 11,5 pour 100 de N, dont 12,5 pour 100 à l'état de NH_2 libre.

En ajoutant ces polypeptides au sang, nous avons observé 2 faits :

1° Toute la quantité ajoutée reste dans le plasma ; la teneur des globules rouges en N non protéique n'augmente pas.

2° On retrouve, dans le filtrat trichloracétique du sang, tout le N polypeptique ajouté. Voici un exemple :

N non protéique du filtrat du sang seul 310 mgr./l.

N non protéique du filtrat du sang + polypeptides 560 mgr./l.

N polypeptique calculé : 250 mgr./l. ; N polypeptidique ajouté : 247 mgr./l.

Injectés très lentement dans une veine, ces composés azotés augmentent très fortement, mais d'une manière passagère, la teneur en polypeptides du sang. Dans plusieurs cas, en injectant 1 gramme de produit par kilogramme d'animal, nous avons obtenu des chiffres de

420-470 milligrammes de N polypeptidique par litre (chiffre initial 40-60 milligrammes).

Par une méthode analogue, nous avons pu préparer les polypeptides à partir du sang (précipitation du sang citraté dilué par l'acide trichloracétique, filtration, précipitation du filtrat par l'acide phospho-tungstique, dissolution du précipité dans l'acétone, décomposition par la baryte, élimination de l'excès du baryum, neutralisation, évaporation).

C

Méthode de dosage des polypeptides.

La méthode classique consiste à doser l'azote dans le filtrat trichloracétique, et dans le filtrat phospho-tungstique. La différence entre les 2 dosages correspond à l'azote polypeptidique.

Nous avons modifié cette méthode de la manière suivante : 10 centimètres cubes de sang citraté sont hémolysés avec 10 centimètres cubes d'eau distillée. A ces 20 centimètres cubes, on ajoute 20 centimètres cubes d'acide trichloracétique à 10 pour 100. On filtre au bout de 30 minutes. A 20 centimètres cubes du filtrat parfaitement limpide, qui correspondent à 5 centimètres cubes de sang, on ajoute 5 centimètres cubes d'acide phospho-tungstique à 5 pour 100 dans HCl 0,5 N. La solution devient trouble ; on la laisse déposer 24 heures. Au bout de ce temps on centrifuge (la précipitation est faite dans un tube à centrifuger) et on décante le liquide surna-

geant. Le précipité est lavé 2 fois avec l'acide phosphotungstique. On procède à la kjeldahlisation (directement dans le tube); le NH_3 est distillé dans l'appareil de Parnas et Wagner et dosé par titrimétrie.

Avec cette méthode on ne fait qu'une déprotéinisation et un dosage. On trouve par cette méthode en moyenne 40 miligrammes de N polypeptidique par litre.

Bien entendu, on dose avec les polypeptides, comme dans la méthode classique, certains acides aminés (les acides diamminés).

La précipitation des polypeptides par l'acide phosphotungstique est-elle complète? Quelques hydrolyses acides du filtrat phosphotungstique n'ont pas donné une augmentation de la teneur en acides aminés.

Si on ajoute au sang les polypeptides que nous avons préparés, on les dose évidemment dans le précipité phosphotungstique. Notre méthode de dosage a une certaine analogie avec la méthode d'Achard et Feuillié qui ont dosé les albumoses du sang en mesurant le trouble provoqué par le réactif du Tanret dans un sérum désalbuminé par la chaleur.

Pour le dosage dans les tissus, nous avons employé la même technique, à quelques détails près. Un fragment de tissu pesant 1 gramme-1^{er},5, finement morcelé avec des ciseaux est plongé, immédiatement après le prélèvement, dans un petit becher taré qui contient 10 centimètres cubes d'acide trichloracétique à 10 pour 100. L'acide trichloracétique, empêche l'action des ferments protéolytiques. Cette méthode de fixation a été employée par L. Binet et G. Weller pour le dosage du

glutathion. Une fois fixé par l'acide trichloracétique; le tissu pesé par différence est trituré avec du sable, épuisé plusieurs fois par l'acide trichloracétique et filtré. Le précipité est lavé avec l'acide trichloracétique jusqu'à ce que le filtrat ne donne plus de trouble avec l'acide phospho-tungstique. 35 centimètres cubes d'acide trichloracétique suffisent généralement.

Le filtrat trichloracétique est précipité dans un tube à centrifuger par l'acide phospho-tungstique. Comme dans le cas du sang, on dose après lavage l'azote du précipité.

Notons que les tissus sont beaucoup plus riches en N polypeptidique que le sang. Nous avons étudié le foie, la rate, le rein, les muscles et le poumon.

Pour étudier l'action des poumons sur les polypeptides, nous avons dosé d'une part les polypeptides et d'autre part leurs produits d'hydrolyse, c'est-à-dire les acides aminés. Ces derniers ont été dosés par la méthode de Sørensen (formol-titration).

Nous donnons ici les protocoles de nos expériences.

A. — VARIATIONS DE LA TENEUR DU SANG EN N POLYPEPTIDIQUE ET EN N AMINÉ AU COURS DE LA PERFUSION.

10 avril 1935. — Chien N° 1. Poids 17 kilogrammes. Endormi au chloralose. Durée de la perfusion 2 h. 30. Quantité de sang perfusé 350 centimètres cubes.

N polypeptidique avant	58 mgr./l.
— témoin	62 mgr./l.
— après	53 mgr./l.

22 mai. — Chien N° 2. Poids 16 kilogrammes Endormi au chloralose à 12 heures. Début de la perfusion 14 heures. Durée de la perfusion 3 heures. Quantité du sang perfusé 400 centimètres cubes.

N polypeptidique	avant	42 mgr./l.
—	témoin	45 mgr./l.
—	après	44 mgr./l.

N aminé	avant	45 mgr./l.
—	témoin	49 mgr./l.
—	après	60 mgr./l.

23 mai. — Chien N° 3. Poids 17 kilogrammes. Endormi au chloralose à 12 heures. Début de la perfusion 14 h. 30. Durée 2 h. 30. Quantité du sang perfusé 350 centimètres cubes.

N polypeptidique	avant	46 mgr./l.
—	témoin	48 mgr./l.
—	après	45 mgr./l.

N aminé	avant	40 mgr./l.
—	témoin	48 mgr./l.
—	après	54 mgr./l.

25 mai. — Chien N° 4. Poids 18 kilogrammes. Durée de la perfusion 3 heures. Quantité de sang perfusé 400 centimètres cubes.

N polypeptidique	avant	35 mgr./l.
—	témoin	37 mgr./l.
—	après	42 mgr./l.

N aminé	avant	42 mgr./l.
—	témoin	47 mgr./l.
—	après	60 mgr./l.

De ces expériences, on peut conclure que l'azote polypeptidique ne varie pas d'une façon appréciable au cours de la perfusion et que l'azote aminé augmente en moyenne de 15 milligrammes par litre.

B. — ACTION DE LA PERFUSION PULMONAIRE SUR LES POLYPEPTIDES AJOUTÉS AU SANG CIRCULANT.

13 avril 1935. — Chien N° 1. Poids 17 kilogrammes à jeun. Durée de la perfusion 2 h. 30. Quantité de sang perfusé 350 centimètres cubes. Polypeptides ajoutés 2 gr./l.

	SANG AVANT	SANG TÉMOIN	SANG PERFUSÉ
N polypeptidique (en mgr./l.).	270	260	150
N aminé (en mgr./l.).	84	102	153

31 avril. — Chien N° 2. Poids 18^{kg},400 à jeun. Durée de la perfusion 2 heures. Sang perfusé 350 centimètres cubes. Polypeptides ajoutés 2 gr./l.

	SANG	SANG + POLYPEPTIDES	SANG TÉMOIN	SANG PERFUSÉ
N polypeptidique (en mgr./l.). »		260	255	155
N aminé(en mgr./l.).	60	85	102	160

L'azote aminé libre des polypeptides a passé de 25 (85-60) à 100 (160-60).

3 mai. — Chien N° 3. Poids 23 kilogrammes à jeun. Durée de la perfusion 1 h. 15. Quantité de sang perfusé 350 centimètres cubes. Polypeptides ajoutés 1,50 gr./l.

	SANG	SANG + POLYPEPTIDES	SANG TÉMOIN	SANG PERFUSÉ
N polypeptidique (en mgr./l.). . .	»	210	190	150
N aminé(en mgr./l.).	75	93	98	128

6 mai. — Chien N° 4. Poids 20 kilogrammes à jeun. Durée de la perfusion 3 heures. Quantité de sang perfusé 350 centimètres cubes. Polypeptides ajoutés 2 gr./l.

	SANG	SANG + POLYPEPTIDES	SANG TÉMOIN	SANG PERFUSÉ
N polypeptidique (en mgr./l.). . .	»	280	240	115
N aminé(en mgr./l.).	54	80	109	148

10 mai. — Chien N° 5. Poids 19 kilogrammes à jeun. Durée de la perfusion 2 h. 30. Sang perfusé 350 centimètres cubes. Polypeptides ajoutés 2 gr./l.

	SANG AVANT	SANG TÉMOIN	SANG PERFUSÉ
N polypeptidique en mgr./l. . . .	260	245	160
N aminé total en mgr./l. . . .	100	125	190
N aminé libre en mgr./l. . . .	70	82	140
N aminé combiné mgr/l. . . .	30	43	50

Le N aminé total est dosé sur un filtrat trichloracétique; le N aminé libre sur un filtrat phospho-tungstique; le N aminé combiné représente la différence entre le N aminé total et le N aminé libre.

14 mai. — Chien N° 6. Poids 16 kilogrammes. Durée de la perfusion 1 h. 45. Sang perfusé 350 centimètres cubes. Polypeptides ajoutés 2 gr./l.

	SANG AVANT	SANG TÉMOIN	SANG PERFUSÉ
N polypeptidique.	250	235	105
N aminé total.	72	89	118
N aminé libre.	45	50	92
N aminé combiné.	27	29	26

17 mai. — Chien N° 7. Poids 16^{kg},300 à jeun. Durée de la perfusion 2 heures. Sang perfusé 350 centimètres cubes. Polypeptides ajoutés 2 gr./l.

	SANG AVANT	SANG TÉMOIN	SANG PERFUSÉ
N polypeptidique.	250	230	135
N aminé.	80	98	150

Teneur du poumon en N polypeptidique : avant la perfusion 82 mgr./kgr.

Teneur du poumon en N polypeptidique : après la perfusion 88 mgr./kgr.

27 mai. — Chien N° 8. Poids 17 kilogrammes à jeun. Durée de la perfusion 2 h. 30. Sang perfusé 350 centimètres cubes.

On a ajouté 50 centigrammes de glycyl-glycine pour 500 centimètres cubes de sang.

Teneur en N aminé avant : 155 mgr./l.

Teneur en N aminé témoin : 178 mgr./l.

Teneur en N aminé après : 235 mgr./l.

On peut conclure de ces expériences qu'au cours de la perfusion, il y a disparition des polypeptides, avec augmentation des acides aminés. Donc on peut mettre en évidence l'action érepsique d'un organe, tout en restant dans des conditions physiologiques.

C. — ACTION DU POUMON SUR LES POLYPEPTIDES IN VITRO.

Expérience I. — Le chien est saigné à blanc, le poumon est prélevé immédiatement et débarrassé du sang par lavage. 25 grammes de poumon haché sont finement broyés avec 50 grammes de sable.

Le mélange poumon-sable est tout à fait homogène.

Avec ce mélange on prépare comme suit 6 tubes renfermant chacun 9 grammes du mélange, ce qui correspond à 3 grammes du poumon :

Tube n° 1 : 9 grammes de mélange + 15 centimètres cubes de solution physiologique (témoin);

Tube n° 2 : 9 grammes de mélange + 15 centimètres cubes de solution physiologique (témoin);

Tube n° 3 : 9 grammes de mélange + 10 centimètres cubes de solution physiologique + 5 centimètres cubes d'une solution de polypeptides;

Tube n° 4 : 9 grammes de mélange + 10 centimètres cubes de solution physiologique + 5 centimètres cubes d'une solution de polypeptides;

Tube n° 5 : 9 grammes de mélange + 10 centimètres cubes de solution physiologique + 5 centimètres cubes d'une solution de glycyl-glycine;

Tube n° 6 : 9 grammes de mélange + 10 centimètres cubes de solution physiologique + 5 centimètres cubes d'une solution de glycyl-glycine.

On ajoute dans chaque tube quelques gouttes de chloroforme, on agite bien et on laisse 2 h. 30 à l'étuve à 37°.

Au bout de ce temps on précipite le contenu de chaque

tube par l'acide trichloracétique à 10 pour 100 et on dose par formol-titration les acides aminés du filtrat.

Résultats :

Poumon seul 2 milligrammes (tubes n^{os} 1 et 2);

Poumon + polypeptides 5^{mgr},1 (tubes n^{os} 3 et 4);

Polypeptides (par différence) 3^{mgr},1;

Polypeptides sans poumon 1^{mgr},4.

La teneur en acides aminés a passé de 1^{mgr},4 à 3^{mgr},1.

Pour la glycyl-glycine :

Poumon 2 milligrammes;

Poumon + glycyl-glycine 2^{mgr},95 (tubes n^{os} 5 et 6);

Glycyl-glycine (par différence) 0^{mgr},95;

Glycyl-glycine sans poumon 0^{mgr},60.

La teneur en acides aminés a passé de 0^{mgr},60 à 0^{mgr},95.

Expérience II. — Mêmes conditions que dans l'expérience précédente. Durée du séjour à l'étuve 3 h. 30 :

Poumon seul 2^{mgr},25;

Poumon + polypeptides 5^{mgr},90;

Polypeptides (par différence) 3^{mgr},65;

Polypeptides sans poumon 1^{mgr},65.

La teneur en acides aminés a passé de 1^{mgr},65 à 3^{mgr},65.

Pour la glycyl-glycine :

Poumon seul 2^{mgr},25;

Poumon + glycyl-glycine 3^{mgr},15;

Glycyl-glycine (par différence) 0^{mgr},90;

Glycyl-glycine sans poumon 0^{mgr},55.

La teneur en acides aminés a passé de 0^{mgr},55 à 0^{mgr},90.

Donc le poumon, laissé à l'étuve, décompose la peptone et la glycyl-glycine.

CONCLUSIONS

I. Un extrait pulmonaire transforme *in vitro*, à 37°, les polypeptides en acides aminés.

II. Dans une préparation de perfusion pulmonaire, il y a une forte diminution des polypeptides ajoutés au sang circulant; par ailleurs on constate une élévation des acides aminés.

Ces deux données, établies sur un grand nombre d'expériences, semblent devoir être retenues dans l'étude des « fonctions internes » du poumon.

Vu :

Le Doyen,

G. ROUSSY.

Vu :

Le Président de Thèse,

LÉON BINET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

A. — FERMENTS PROTÉOLYTIQUES.

E. ABDERHALDEN. — *a) Lehrbuch der physiologischen Chemie*, 1923.

b) Die abderhaldensche Reaction, 1921.

M. BAYLISS. — *The nature of enzyme action*, 1914.

V. EULER. — *Chemie der Enzyme*, 1925.

L. HUGOUNENQ et J. LOISELEUR. — *a) De l'adsorption élective des colloïdes. Bull. de la Soc. de Ch. Biol.*, 1926, p. 522.

b) Sur la biochimie des électrolytes. Bull. de la Soc. de Ch. Biol., 1926, p. 610.

K. LINDERSTRON-LANG. — *C. R. Labor. Carlsberg*.

J.-H. NORTHROP. — *J. of general Physiol.*, à partir du tome 12, 1929.

C. OPPENHEIMER. — *Die Fermente und ihre Wirkung*, 1927.

R. WILLSTAETTER. — *Untersuchungen über Enzyme*, 1928. *Zt. f. physiol. Chemie*, t. 123, p. 1, 1922;

t. 161, p. 191, 1926; t. 204, p. 181, 1932; t. 208, p. 258, 1932.

- F. WALDSCHMIDT-LEITZ. — The mode of action and differentiation of proteolytic enzymes. *Physiological Reviews*, July 1931. *Zt. der physiol. Chemie*, t. 188, p. 17, 1930.

B. — POLYPEPTIDES DU SANG; MÉTHODES DE DOSAGE;
VARIATIONS.

Ch. ACHARD et E. FEUILLIÉ. — Sur la recherche des albumoses dans le plasma sanguin, le sérum, les sérosités et les exsudats. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 83, p. 1535, 1920.

P. CRISTOL. — Études sur la désalbumination du sang et des humeurs en vue de dosage de l'azote total non protéique. *Thèse de Montpellier*, 1926.

Pierre DUVAL, J.-Ch. ROUX et R. GOIFFON. — Essai sur l'intoxication par les polypeptides. *La Presse Médicale*, 14 novembre 1934.

N. FIESSINGER, M. HERBAIN et R. LANÇON. — La traversée hépatique des polypeptides. *Arch. Internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie*, t. 43, fasc. 2, pp. 216-236, 1932.

N. FIESSINGER, H.-R. OLIVIER et M. HERBAIN. — Indice de désamination sanguine comme épreuve d'exploration fonctionnelle du foie. *Bull. et mém.*

Soc. méd. des Hôpitaux, t. 1, n° 35, 14 novembre 1926.

R. GOIFFON et J. SPAY. — Méthode colorimétrique de mesure des polypeptides du sérum. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 115, p. 711, 1934.

HILLER et VAN-SLYKE. — A study of certain protein precipitants. *Jl. of biol. chemistry*, t. 53, p. 253, 1922.

R. LANÇON. — Études sur l'intoxication par les polypeptides. *Thèse de Paris*, 1934.

Maurice LOEPER, P. SOULIÉ et André LESURE. — Rétention des ferments protéolytiques dans l'imperméabilité rénale. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 110, p. 513, 1932.

R. MARTENS. — Contribution à l'étude de l'azote peptidique dans le sang. *Bull. de la Soc. de Ch. Biol.*, pp. 1336-1372, 1928. Régulation de l'amino-acidémie et de la polypeptidémie. *Arch. Int. Med. exp.*, t. 8, fasc. 3, pp. 361-482, novembre 1933.

C. — EXPÉRIENCES DE PERFUSION DU POUMON.

Léon BINET. — Qu'est-ce qu'un poumon? *Six conférences de Physiologie*. Masson et C^{ie}, éditeurs, 1935, p. 7.

Léon BINET et Ch. MAYER. — Technique nouvelle

de perfusion sanguine. *C. R. de l'Académie des Sciences*, t. 189, p. 1330, 1923.

Léon BINET, E. AUBEL et M^{lle} Madeleine MARQUIS.
— Action du poumon sur les acides gras volatils du sang circulant. *C. R. de la Société de Biologie*, t. 109, p. 2 et p. 1169, 1932. Disparition des acides gras au cours de la perfusion du poumon. *VI^e Réunion de l'Association des physiologistes*, Lille, 11-14 mai 1932. La combustion des graisses au niveau du poumon. *C. R. de la Société de Biologie*, t. 112, p. 540, 1933.

Léon BINET et D. BARGETON. — Le pouvoir désaminant du poumon. *C. R. de l'Académie des Sciences*, t. 199, p. 1245, 1934.

Léon BINET et M^{lle} M. MARQUIS. — La destruction de l'histamine par le poumon. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 118, p. 1285, 1935.

P. BOURGOIN. — Essais de perfusion pulmonaire
Thèse de Médecine, Paris, 1934.

